Aus dem Robert-Koch-Institut Berlin
Abteilung für Bakteriologie und Seuchenforschung
Direktor: Prof. Dr. med. Hansjürgen Raettig

Untersuchungen zum Rosettenphänomen in Milz und Peyerschen Plaques nach parenteraler und oraler Immunisierung der Maus mit Hammelerythrocyten

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

Vorgelegt von
Olaf Treis
aus Cottbus

1975

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547206_0097

Aus dem Robert-Koch-Institut Berlin
Abteilung für Bakteriologie und Seuchenforschung
Direktor: Prof. Dr. med. Hansjürgen Raettig

Untersuchungen zum Rosettenphänomen in Milz und Peyerschen Plaques nach parenteraler und oraler Immunisierung der Maus mit Hammelerythrocyten

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

Vorgelegt von

Olaf Treis

aus Cottbus

Referent: Professor Dr. med. Hansjürgen Raettig
Korreferent: Professor Dr. I. Hoppe

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 5.2.1975

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

meiner Mutter und meinem Onkel gewidmet

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

	Seite
Einleitung	5
Material und Methoden	10
Versuchstiere	10
Antigen	10
Immunisierung	10
Inaktivierung und Absorption des Kälberserums	11
Aufbereitung der Zellsuspensionen	11
ICA-Test	12
Ergebnisse	14
Immunantwort in der Milz	14
Immunantwort in den Peyerschen Plaques	16
Tabellen und Kurven	17
Abbildungen	19
Diskussion	21
Zusammenfassung	27
Literaturverzeichnis	28

EINLEITUNG

Der experimentelle Nachweis der Wirksamkeit einer oralen Immunisierung mit nichtvermehrungsfähigen Antigenen konnte zum ersten Male im Jahre 1891 von Paul EHRLICH erbracht werden (24). Bis heute wurde zu diesem Thema eine sehr umfangreiche Literatur, nach dem Kriege in Deutschland besonders von RAETTIG und Mitarbeitern, erarbeitet. Eine Zusammenfassung über die Erkenntnisse zur lokalen und damit auch zur oralen Immunisierung und deren historische Entwicklung findet sich bei BREUEL (13).

Lange Zeit glaubte man aus der Höhe des humoralen Antikörperanstiegs ein direktes Maß für die Beurteilung des Impferfolges in Händen zu haben. Da nach oraler Immunisierung ein geringerer und unsicherer Antikörpertiter nachzuweisen war, und man außerdem dem humoralen Antikörpersystem die entscheidende Rolle in der Immunität zuerkannte, stand man der oralen Immunisierung sehr skeptisch gegenüber. Damit ist es zu erklären, daß die orale Immunisierung so lange gegenüber der parenteralen zurückgestanden hat.

Eine Änderung in der Beurteilung der oralen Immunisierung dürfte jedoch mit der Erkenntnis einhergehen, daß nicht nur das humorale Antikörpersystem, sondern auch lokale Immunsysteme wie zum Beispiel die Darmschleimhaut (46, 59, 76, 22) und zellgebundene Antikörper (12, 69) für die Immunität nach einer Impfung verantwortlich sind. Ein direktes Maß für die Beurteilung einer Immunreaktion hinsichtlich der beiden letztgenannten Immunsysteme wäre mit dem Nachweis immunkompetenter Zellen und deren zahlenmäßigem Anstieg nach Immunisierung gegeben.

Zum Nachweis einzelner immunkompetenter Zellen in vitro nach einer Immunisierung mit Hammelerythrocyten (HE) ste-

hen jetzt zwei Methoden zur Verfügung, die innerhalb der zellulären Immunitätsforschung eine hervorragende Rolle erlangt haben.

Bei der ersten Methode (41,42,43) werden Zellsuspensionen lymphatischer Gewebe mit HE vermischt und in einer dünnen Schicht aus Agar oder Carboxymethylzellulose fixiert (LHG-Technik). Nach Inkubation und Zusatz von Komplement treten als Folge der Bildung und Sekretion von Hämolysinen durch antikörperproduzierende Zellen (APZ) Plaques auf. Zellen, die diese Plaques bilden, werden plaquebildende Zellen (PBZ) genannt. Damit ist es möglich, die Zahl der APZ in Einzelzellen enthaltenden Zellsuspensionen zu bestimmen.

Auch bei der zweiten Methode,der Immunadhärenz (Immunocyto-adherence = ICA), die zuerst von NOTA et al. und ZAALBERG (54,81) beschrieben wurde, werden Zellsuspensionen mit HE vermischt und inkubiert. Die Suspensionen werden jedoch nicht fixiert, sondern die Zellen sind im Medium frei beweglich, so daß es möglich wird, daß bestimmte lymphatische Zellen aus ihrer Umgebung eine Reihe von Erythrozyten auf ihrer Oberfläche binden und somit eine sog. Rosette bilden. Diese Zellen werden rosettebildende Zellen (RBZ) genannt. Auf der Zellmembran der RBZ befinden sich spezifische gegen HE gerichtete Antikörper, die durch die Hämolyse der Rosetten durch Komplement (83) und die Hemmung der Rosettebildung durch Antiimmunglobulinsera nachgewiesen werden konnte (1,9,47,71). Außerdem konnte gezeigt werden (7,14,47,51),daß die RBZ die Antikörper fast ausschließlich selbst bilden und jene nicht von ihnen aus den zirkulierenden Antikörpern passiv adsorbiert werden.

Die Untersuchung der RBZ und ihre Verbindung zur APZ, (d.h. die Wechselwirkung zwischen RBZ und PBZ während der Immunantwort) hat zum Teil hinsichtlich der Antikörperbildung und Freisetzung zu unterschiedlichen Auffassungen geführt. Einige Autoren (9,68,83) nahmen an, daß viele RBZ agglutinierende Antikörper sezernieren, die vermutlich mit der Jerne-Technik nicht nachzuweisen sind (78). WILSON konnte dagegen mit einer besonders empfindlichen LHG-Technik (52, 53) in einem Rosetten-Transfer-Verfahren zeigen, daß nur sehr wenige RBZ Antikörper sezernieren und daß die Bindung der HE durch zellgebundene Antikörper erfolgt. Es fanden sich jedoch auch Hinweise dafür, daß eine kleine Zahl von RBZ keine Antikörper bildet (70,83). Es wurde angenommen, es könne sich bei diesen Zellen um Memoryzellen (23,83) oder Antigen-sensitive Zellen handeln (35).

Alle Klassen von Antikörpern (19S u. 7S), die sich auf der Oberfläche der APZ befinden, werden beim ICA-Test nachgewiesen (7,19, 51,83). Die Menge der produzierten Antikörper ist jedoch für die verschiedenen Immunglobuline während der Immunantwort unterschiedlich. Während in der Anfangsphase einer primären Immunantwort 19S-Immunglobuline vorherrschen, werden in deren späterer Phase und in der Sekundärantwort vorwiegend 7S-Immunglobuline gebildet (9, 51,83).

Elektronenmikroskopische Untersuchungen (37,70,84) halfen den strukturellen Feinbau der Immunadhärenz zwischen RBZ und HE aufzuklären. Es wurden grundsätzlich zwei verschiedene Arten der Bindung gefunden. Bei manchen Rosetten ist eine breite umschriebene Zone der Erythrozytenmembran mit der RBZ verbunden, während in anderen Rosetten eine mehr punktförmige Bindung zwischen einer kleinen Zone der RBZ-Membran und einer kleinen Protuberanz der Erythrozyten zu finden ist. Zwischen den Zellmembranen an den Bindungszo-

nen findet sich ein Spalt von etwa 80Å Breite, in dem elektronenundurchlässige Brücken zu finden sind, die als Bündel von Immunglobulinen angesehen werden (37). Daß die Bindungszonen auf den RBZ Immunglobuline enthalten, konnte außerdem durch den Nachweis Ferritin-markierter Antikörper in diesen Zonen gezeigt werden (37).

Morphologisch handelt es sich bei den RBZ um eine relativ heterogene Gruppe leukozytärer Zellen (36,66,70). STORB und Mitarbeiter konnten bei elektronenmikroskopischen Untersuchungen fünf verschiedene Gruppen identifizieren: 1. Lymphozyten, 2. Plasmazellen, 3. Zellen mit blassen Kernen, die wahrscheinlich Vorläufer unreifer Plasmazellen sind, 4. Zellen mit Zytoplasmakörperchen, die möglicherweise Vorläufer von Makrophagen, Plasmazellen oder Lymphozyten darstellen, 5. Makrophagen.

Die Beantwortung der Frage nach der Abstammung von rosettebildenden Lymphozyten führte zu recht unterschiedlichen Ergebnissen. Es ist sehr wahrscheinlich, daß bei einer Immunantwort gegen HE Thymuszellen (T-Lymphozyten) und Knochenmarkszellen (B-Lymphozyten) zusammenwirken und Rosetten bilden können (14,79,80). Daß die Herkunft einer beträchtlichen Anzahl von RBZ vom Thymus ausgeht, konnte durch die Hemmung einer großen Zahl von RBZ durch Anti Θ Serum (A Θ S) sowohl in nicht immunisierten (2,3,34) als auch in immunisierten Mäusen (34,63,77) nachgewiesen werden. Dieser Nachweis war jedoch nicht in allen durchgeführten Experimenten zu erbringen. Einige Autoren berichten über total negative Ergebnisse sowohl für nicht immunisierte als auch für immunisierte Mäuse (60,71). Andere beobachteten Θ - positive Rosetten nur auf dem Höhepunkt einer Immunantwort (63,77). Diese Differenzen sind möglicherweise durch die unterschiedliche Technik in der Durchführung des

ICA-Tests bei den verschiedenen Autoren und/oder durch unterschiedliche Verfahren in der Herstellung des A ϴ S zu erklären (16).

Der ICA-Test ist bisher nur nach parenteraler (i.v. und i.p.) Immunisierung durchgeführt worden.

Aufgabe dieser Arbeit soll es sein, den ICA-Test nach oraler Immunisierung mit HE bei der weißen Maus durchzuführen und die Kinetik einer primären Immunantwort anhand des Auftretens von RBZ in Milz und Peyerschen Plaques aufzuzeigen. Die erhaltenen Werte werden mit denen einer intraperitoneal immunisierten Gruppe verglichen werden.

MATERIAL UND METHODEN

I. Versuchstiere

Für sämtliche Versuche wurden weiße NMRI-Mäuse männlichen Geschlechts mit einem Gewicht von 12 bis 14 g zu Beginn der Immunisierung verwendet. Die Tiere wurden in Plastikkäfigen gehalten und bekamen als Nahrung Altromin-Trockenfutter und Leitungswasser ad libitum. Die Haltung der Kontrolltiere erfolgte in gleicher Weise.

II. Antigen

Als Antigen dienten Hammelerythrozyten (HE), die von, im Robert-Koch-Institut gehaltenen Spendertieren, stammten. Die HE wurden drei mal in physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und danach in physiologischer NaCl-Lösung, (PH 7,4) mit 20%iger Konzentration suspendiert. Diese HE-Suspension wurde im Kühlschrank bei $+4^{\circ}C$ aufbewahrt und fand sowohl für die Immunisierung als auch in entsprechender Verdünnung für den ICA-Test Verwendung.

III. Immunisierung

1. Jedes Tier der oralen Versuchsreihe erhielt an 2 x 5 aufeinanderfolgenden Tagen je 0,25 ml der 20%igen HE-Suspension (= etwa 10^9 HE pro Einzelgabe).
2. Jedes Tier der intraperitonealen Versuchsreihe erhielt eine einmalige i.p. Injektion von 0,2 ml der 20%igen HE-Suspension (= etwa 8×10^8 HE).
3. An jedem Versuchstag wurden zwei Kontrollgruppen mituntersucht. Dabei dienten als Negativkontrolle Tiere, die nicht immunisiert worden waren. Die Tiere der Positivkon-

trolle hatten eine einmalige Gabe von 8 x 10^8 HE intravenös in die Schwanzvene erhalten.

IV. Inaktivierung und Absorption des Kälberserums

Die Inaktivierung des im Kälberserum vorhandenen Komplements erfolgte durch Inkubation in einem Wasserbad bei 57°C für 30 Minuten. Zur Eliminierung von im Kälberserum befindlichen zytophilen Antikörpern wurde eine Absorption des KS mit Hammelerythrozyten durchgeführt.

Kälberserum wurde mit einem Überschuß von Hammelerythrozyten (Entstehung einer 20%igen HE-Suspension) vermischt und für eine Stunde bei 37°C im Brutschrank inkubiert. Anschließend wurde die Suspension zentrifugiert, der KS-Überschuß abpipettiert und in kleinen Portionen zur weiteren Verwendung eingefroren.

V. Aufbereitung der Zellsuspensionen

Pro Versuchstag wurden 15 Tiere, jeweils 9 oral oder intraperitoneal immunisierte und 3 Tiere der Positivkontrollgruppe, mittels Durchtrennung der Halswirbelsäule getötet und entblutet. Unter sterilen Kautelen wurden die Milz und die Peyerschen Plaques des Dünndarms präpariert und in Eagle-Medium (pH 7,2), welches 5%iges inaktiviertes und mit HE absorbiertes Kälberserum enthielt, aufbewahrt. Die Milzen und Peyerschen Plaques von je drei Tieren einer Versuchsgruppe wurden dabei gepoolt, anschließend sanft von Hand in einem POTTER-ELVEHJEM Homogenisator homogenisiert und durch ein Wolframsieb mit einer Maschenweite von 50 x 50 µ gewaschen. Auf diese Weise wurden 10 verschiedene Zellsuspensionen erhalten:

aus der Milz:	3 der oralen oder der intraperitonealen Versuchsreihe, eine der Positiv- und eine der Negativkontrollgruppe
aus den Peyerschen Plaques:	3 der oralen oder der intraperitonealen Versuchsreihe 1 der Positiv- und 1 der Negativkontrollgruppe

Die so aufbereiteten Zellsuspensionen wurden zur weiteren Verwendung im Kühlschrank aufbewahrt.

VI. ICA-Test

Hier wurde die von ZAALBERG (81,82) entwickelte Methode mit geringen Modifikationen angewandt. Sie gelangte wie folgt zur Durchführung:
Bei jeder Zellsuspension wird die Zellzahl in einer Bürkerzählkammer mikroskopisch bestimmt. Anschließend werden die Zellsuspensionen durch Verdünnung mit Eagle-Medium bei den Milzzellsuspensionen auf eine Konzentration von 2×10^7 Zellen/ml und bei den Peyerschen Plaques wegen der geringeren Zellausbeute auf 10^7 Zellen/ml gebracht. Je ein Milliliter jeder Zellsuspension wird in ein gläsernes Teströhrchen mit einem Durchmesser von 0,5 cm pipettiert und mit einem Milliliter einer 2%igen HE-Suspension vermischt. Die 2%ige HE-Suspension wird durch Verdünnung mit Eagle-Medium (pH7,2) aus der 20%igen HE-Suspension gewonnen und enthält außerdem 5 % inaktiviertes und absorbiertes Kälberserum. Auf diese Weise ergeben sich folgende Zellkonzentrationen in den Teströhrchen:
Milzzellsuspensionen: Je 10^7 MZ/ml in 1%iger HE-Suspension
PPZ-Suspensionen: Je 5×10^6 PPZ/ml in 1%iger HE-Suspension

Die Teströhrchen werden mit Gummipfropfen verschlossen und für 75 Min bei 37°C inkubiert (68). Nach der Inkubation werden die Teströhrchen in einem Eiswasserbad aufbewahrt. Die Auszählung der Rosetten erfolgt in einer Bürker-Zählkammer, nachdem die Zellen vorsichtig von Hand aufgeschüttelt worden sind. Es werden je Probe bei den Milzzellensuspensionen etwa 4000 Milzzellen und bei den PPZ-Suspensionen etwa 2000 Peyersche-Plaques-Zellen auf Rosettebildung untersucht. Eine kernhaltige Zelle mit mindestens 5 adsorbierten Hammelerythrozyten wird als Rosette betrachtet.

ERGEBNISSE

I. Immunantwort in der Milz

Am ersten und zweiten Tag nach intraperitonealer Immunisierung mit 8 x 10^8 HE ist noch kein Anstieg der RBZ festzustellen, denn die Zahl von 500 RBZ/10^6 MZ liegt im Bereich des natürlichen Backgrounds, der durch eine Kontrollgruppe von nicht immunisierten Tieren (Negativkontrolle) ermittelt wurde. Der durchschnittliche Background liegt bei 630 RBZ/10^6MZ, wobei eine Streuung von 250 RBZ/10^6 MZ bis 1000 RBZ/10^6 MZ auftritt. Am dritten Tag steigt die Zahl der RBZ auf 1500/10^6 MZ an, um am 5. Tag einen Maximalwert von 4800 RBZ/10^6 MZ zu erreichen. Die Immunantwort setzt also erst nach einer Latenzperiode von 2 Tagen ein. Am 6. Tag reduziert sich die Zahl der RBZ mit 2410/10^6 MZ auf etwa die Hälfte des am Vortage erreichten Maximalwertes. Vom 7. Tag an nehmen die RBZ allmählich wieder zu und erreichen am 11. Tag mit 3410/10^6 MZ einen zweiten Gipfel. Danach fallen dann die Werte kontinuierlich bis auf 2080 RBZ/10^6 MZ am 22. Tag. Die Tiere der Positivkontrolle wurden 3 bis 7 Tage vor dem Versuchstag mit einer einmaligen intravenösen Gabe von 8 x 10^8 HE immunisiert, da vom 3. bis 7. Tag nach Immunisierung eine starke Immunantwort zu erwarten war. Es ergaben sich folgende Mittelwerte an rosettebildenden Zellen für die verschiedenen Tage nach Immunisierung pro 10^6 Milzzellen: 3. Tag: 1560, 4. Tag: 4750, 5. Tag: 8300, 6. Tag: 6000, und 7. Tag: 7000.

Nach Ende der zehnmaligen oralen Immunisierung mit je 10^9 HE wird mit 1250 RBZ/10^6 MZ der natürliche Background schon am 1. Tag überschritten, was vermuten läßt, daß die Latenzperiode schon während der Immunisierungszeit überwunden worden ist. Am 2. und 3. Tag nach Immunisie-

rung steigen die Werte der RBZ weiter an, um am 4. Tag mit 4500 RBZ/10^6 MZ ein Maximum zu erreichen. Mit dem 5. Tag fällt die Zahl der RBZ wieder ab und erreicht am 11. Tag einen Wert, der im Bereich des Backgrounds liegt. Auch in den Tagen danach werden die Backgroundwerte nicht mehr überschritten. Die Maximalwerte, die nach oraler und intraperitonealer Immunisierung am 4. Tag erreicht werden, liegen in ihrer Höhe mit 4500 RBZ/10^6 MZ und 4890 RBZ/10^6 MZ ziemlich nahe beieinander. Andererseits zeigen sich jedoch zwischen beiden Immunisierungsarten in der Immunantwort einige gravierende Unterschiede:

Während nach oraler Immunisierung am 1. Tag mit 1250 RBZ/10^6 MZ der Background bereits deutlich überschritten wird, ist nach intraperitonealer Immunisierung ein ähnlich hoher Wert, nämlich 1500 RBZ/10^6 MZ erst am 3. Tag zu verzeichnen. Zieht man in Betracht, daß die Werte am 4. Tag etwa gleich hoch sind, so ergibt sich daraus eine wesentlich schnellere Zunahme der RBZ nach i.p.-Immunisierung gegenüber der oralen. Beim Abfall der RBZ nach dem 4. Tag ist jedoch ein dem entgegengesetztes Verhalten in der Kinetik der Immunantworten zu verzeichnen. Der Wert der RBZ am 22. Tag nach intraperitonealer Immunisierung liegt mit 2080 RBZ/10^6 MZ noch wesentlich über dem Background, was bedeutet, daß die Immunantwort noch immer nicht beendet ist. Im Gegensatz dazu beginnt mit dem 5. Tag nach Ende der oralen Immunisierung die Zahl der RBZ relativ rasch zu fallen und die Immunantwort ist schon am 11. Tag beendet, da an diesem Tag bereits Backgroundwerte erreicht werden.

II. Immunantwort in den Peyerschen Plaques

Nach intraperitonealer Immunisierung mit 8 x 10^8 HE zeigen die erhaltenen Werte, daß ein Anstieg der RBZ in den Peyerschen Plaques des Dünndarmes nicht stattfindet, denn sie liegen alle bei einem Durchschnittswert von 360 RBZ/ 10^6 PBZ im Bereich des natürlichen Backgrounds. Der durchschnittliche Background liegt bei 390 RBZ/10^6 PBZ mit einer Streuung von 0 bis 1500 RBZ/ 10^6 PBZ. Die Werte der Positivkontrolle verhalten sich wie die der Versuchsgruppe. Auch sie liegen mit 440 RBZ/10^6 PBZ ausnahmslos im Bereich des Backgrounds.

Auch nach zehnmaliger oraler Immunisierung mit je 10^6 HE/ zeigen die erhaltenen Werte keine Zunahme der RBZ in den Peyerschen Plaques, da sie ebenso ausnahmslos im Bereich des in der Negativkontrollgruppe ermittelten Backgrounds liegen. So ergibt sich für die orale Versuchsgruppe ein Durchschnitt von etwa 450 RBZ/10^6 PBZ bei einer Streubreite von 0 bis 1330 RBZ/10^6 PPZ. Es tritt also sowohl nach intraperitonealer und oraler als auch nach intravenöser Immunisierung unter den gewählten Versuchsbedingungen keine Immunantwort in den Peyerschen Plaques auf.

Tage nach Ende der Immunisierung	1 x i.p. Immunisierung MILZ	10 x oral Immunisierung MILZ	1 x i.p. Immunisierung P.P	10 x oral Immunisierung P.P.
1	500	1250	0	170
2	500	2080	170	170
3	1500	2750	0	0
4	2410	4500	170	500
5	4890	3920	540	0
6	2830	3320	700	170
7	2920	2500	330	0
8	3100	1750	700	0
9	3000	1910	170	0
10	3330	1580	700	1170
11	3410	920	170	500
12	3250	1000	1700	1330
14		750		660
15	2660		0	
17		310		1000
18		500		830
19	2580		0	
21		1000		670
22	2080		0	

Anzahl der rosettenbildenden Zellen (RBZ) aus der Milz und den Peyerschen Plaques (P.P.) des Dünndarms nach 1 x i.p. Immunisierung mit 8 x 10^8 HE/Tag und nach 10 x oraler Immuniserung mit 10^9 HE/Tag.
Angaben jeweils pro 10^6 Milzzellen und pro 10^6 Peyersche Plaques-Zellen.

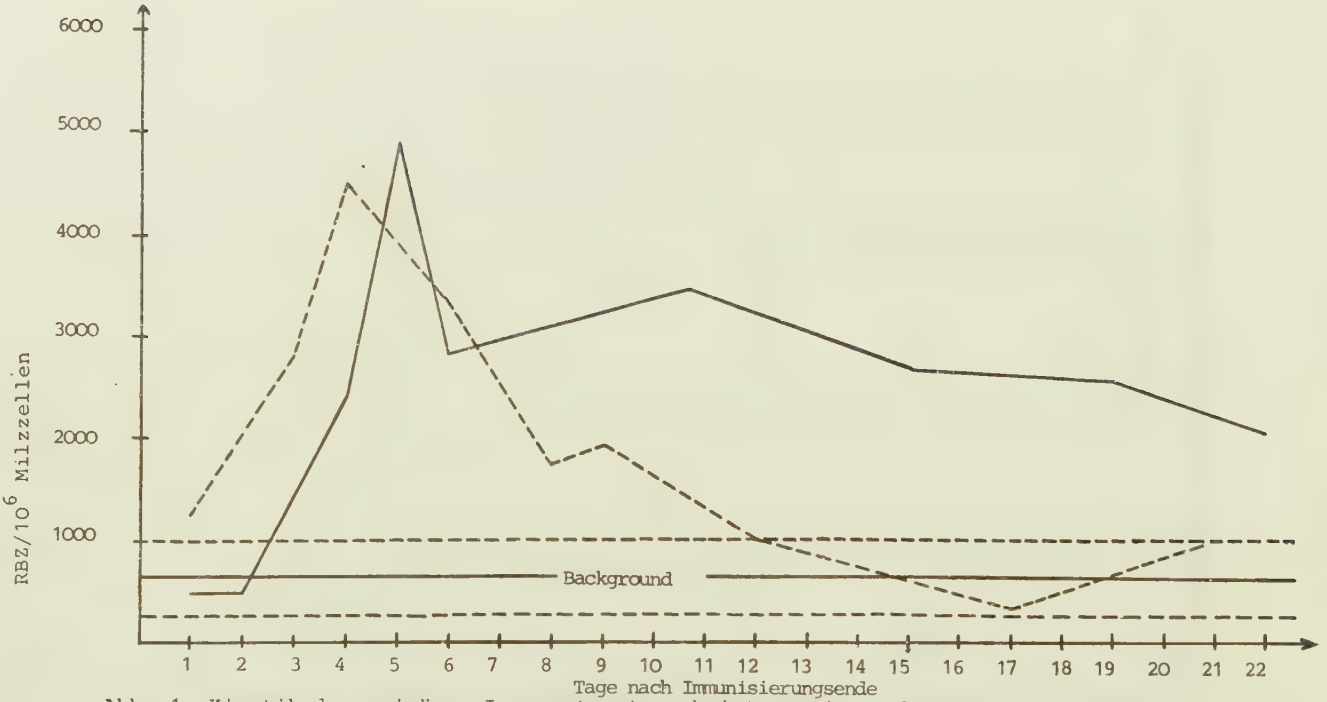

Abb. 1: Kinetik der primären Immunantwort nach intraperitonealer und oraler Gabe von Hammelerythrocyten. Die durchgehende waagerechte Linie gibt den durschnittlichen Background an, die gestrichelten waagerechten Linien den Streubereich des Backgrounds.
_____ i.p. Immunisierung
---------- orale Immunisierung

Abbildung 2

Abbildung 3

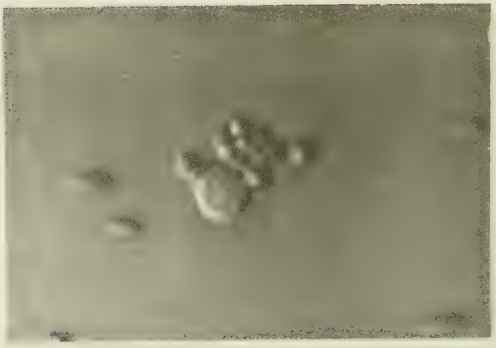

Abbildung 4

Alle Aufnahmen in Differentialinterferenzkontrastfotografie V = 640 linear.

Abbildung 2 zeigt eine Rosette in Morulaform. Die RBZ ist völlig von Erythrocyten bedeckt und daher nicht sichtbar. Sie entsteht durch gleichmäßige Verteilung der Antikörper auf der Oberfläche der RBZ.

Abbildung 3 zeigt eine Rosette in Ringform. Die in der Mitte befindliche RBZ ist von einem Kranz von Erythrocyten umgeben.

Abbildung 4 zeigt eine Rosette in Kappenform. Die Bindung der Erythrocyten erfolgt nur an einem kleinen Areal der Oberfläche der RBZ. Sie entsteht durch punktförmiges Auftreten der Antikörper.

DISKUSSION

Die Voraussetzung für das Auftreten einer Immunreaktion im tierischen Organismus ist der Kontakt zwischen einem von ihm als fremd erkannten Antigen und einem im tierischen Organismus vorhandenen Zellsystem, welches die Aufgabe hat, dieses Antigenmaterial zu neutralisieren. Das in den Organismus eingedrungene Antigenmaterial wird zunächst von Zellen des Retikulo-histiocytären Systems, den Makrophagen, phagocytiert und Fragmente dieses Antigens mit Ribonukleinsäure gekoppelt (31,32,33,61). Es konnte experimentell gezeigt werden, daß dieser Antigen-RNS-Komplex immunologische Aktivität besitzt. FISHMAN (26,27,28,29) und FRIEDMAN (31) mischten aus Makrophagen gewonnene Antigen-RNS-Komplexe mit Lymphocyten, die nach Injektion in röntgenbestrahlte Tiere spezifische Antikörper produzierten. Die Makrophagen bilden also eine Art Transfer-RNS, die dann die Antigen-Information auf lymphatische Zellen überträgt und diese zur Produktion von spezifischen Antikörpern veranlaßt (30,50,67).

Werden die Antigene parenteral zugeführt, so gelangen sie über die Blutbahn oder das Lymphsystem direkt an die für die Immunantwort verantwortlichen Zellsysteme. Zahlreiche Autoren haben die Kinetik einer primären Immunantwort nach parenteraler Immunisierung mit Schafserythrocyten anhand des zahlenmäßigen Anstiegs von rosettebildenden Zellen, die, wie schon vorher besprochen auch zum zellulären Immunsystem gehören, in verschiedenen lymphatischen Geweben aufgezeigt (8,11,51,54,78,81,82).

Ein Vergleich zwischen den von mir erarbeiteten Ergebnissen und denen anderer Autoren, die den ICA-Test mit Milzzellen der Maus nach intraperitonealer Immunisierung durchführten, zeigt eine weitgehende Übereinstimmung in der Kinetik der primären Immunantwort (51,78,82).

Die RBZ steigen bis zum 5. oder 6. Tag nach Immunisierung steil an und erreichen an diesen Tagen Maximalwerte. Danach vermindern sich die RBZ sehr langsam und liegen bei allen Untersuchungen am Ende des Untersuchungszeitraumes deutlich über dem Background. WILSON (78) erhielt am 5. Tag nach i.p. Immunisierung mit 10^9 SE einen Maximalwert von 7533 RBZ/10^6 MZ. Bei MOAV (51) liegen die höchsten Werte mit etwa 9500 REZ/10^6 MZ am 5. und 6. Tag nach Immunisierung mit 0,2 ml 50% HE. Eine wesentlich höhere Zahl an RBZ, nämlich 33000 RBZ/10^6 MZ, erhielt ZAALBERG (82) am 6. Tag nach i.p. Immunisierung mit 0,5 ml 20 % HE. Der von mir erhaltene Maximalwert liegt mit 4890 RBZ/10^6 MZ am 5. Tag nach Immunisierung unter dem der zitierten Autoren. Diese unterschiedlichen Ergebnisse sind wahrscheinlich auf Differenzen in bezug auf Antigendosis, Mäusestamm und ICA -Testverfahren zurückzuführen. Außerdem fanden für meine Versuche etwa drei bis vier Wochen alte Mäuse mit einem Gewicht von 12 bis 14 g bei Beginn der Immunisierung Verwendung, die noch nicht über eine volle immunologische Reife verfügen, wie FIDLER durch in vitro Versuche zeigen konnte (25).

Im Gegensatz zur parenteralen Immunisierung erreichen bei der oralen die Antigene nicht direkt die immunkompetenten Zellen, sondern sie müssen die Darmwand passieren, bevor sie in das Blut oder die Lymphe gelangen. Bei der Passage des Magen-Darm-Traktes wirken jedoch Milieuverhältnisse wie der saure Magensaft und proteolytische Fermente auf das zugeführte Antigen ein. Proteine werden so teilweise in Peptide oder Aminosäuren aufgespalten und dürften damit ihren Antigencharakter verlieren. Eine Immunantwort kann aber nur dann einsetzen, wenn ein Teil des Antigenmaterials weitgehend unverändert aufgenommen wird und damit seine Antigenität

behält. Bei der Aufnahme des Antigens durch den Darm muß es also einen Mechanismus geben, der ihre Strukturerhaltung gewährleistet. Dieser geforderte Mechanismus wurde als das Phänomen der Persorption erkannt. VOLKHEIMER konnte zeigen, daß Stärkekörner bis zu einer Größe von 120 Mikron und sogar Sandkörner bis zu einer Größe von 150 Mikron durch parazelluläre Immigration über den Darm zur Aufnahme gelangen können. Dieses Phänomen wurde von ihm Persorption genannt (74). Schon im Jahre 1844 berichtete HERBST über die Aufnahme von Stärkekörnern nach Verfütterung und deren Nachweis in Blut und Lymphe beim Hund (39). Deshalb ist das Phänomen der Persorption auch als "Herbst-Effekt" bezeichnet worden.

Andere Untersuchungen ergaben auch Hinweise für die Pinocytose gelöster Makromoleküle durch absorbierende Zellen des Dünndarmes mit anschließendem Transport in den Extrazellulärraum der Lamina propria und von dort in die Lymphe (18,75).

Ausgehend von der guten Wirksamkeit einer oralen Impfung zur Sanierung eines typhusverseuchten Landkreises im Jahre 1948, waren es besonders RAETTIG und Mitarbeiter, die in der Folgezeit tierexperimentell Aufschluß über die Art des Wirkungsmechanismus der oralen Immunisierung erarbeitet haben. Es konnte gezeigt werden, daß nach Verfütterung von apathogenen T_3-Phagen (40,56) wie auch von virulenten COL.-SK.-Viren (57,58) diese Antigene bereits nach wenigen Minuten im Blut nachzuweisen sind. Auch größere Testkeime wie radiomarkierte inaktivierte S.typhi murium Bakterien (49,72) und lebende Staphylokokken (64) werden nach Verfütterung im Dünndarm persorbiert und treten im Blut auf. In Modellversuchen mit Viren und Bakterien konnte weiterhin gezeigt werden, daß diese Antigene nach parenteraler Zufuhr auch

über die Darmschleimhaut in das Darmlumen sezerniert werden (49,62,65,72). Die auf verschiedene Weise zugeführten Antigene unterliegen also einer Art Kreislauf bestehend aus Persorption und Sekretion, wobei das Antigen an die immunkompetenten Zellen der Darmwand und anderer lymphatischer Organe gelangt und eine Immunreaktion auslösen kann. Den Nachweis dieser Immunreaktion nach oraler Immunisierung mit Hammelerythrocyten konnte WERNER durch Nachweis immunkompetenter Zellen mittels der Jerne-Technik erbringen.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen mit dem Anstieg der RBZ eine deutliche Immunantwort auf die vorangegangene orale Immunisierung. Diese Immunantwort ist schon am ersten Tag nach Ende der Immunisierung nachzuweisen und erstreckt sich über weitere 10 Tage. So kann der von WERNER angegebene Anstieg immunkompetenter Zellen bestätigt werden (76).

Auch BAZIN konnte nach oraler Immunisierung mit Schafserythrocyten mittels der Jerne-Technik immunkompetente Zellen in den Milzen keimfreier Mäuse nachweisen (4). Bei konventionell gehaltenen Mäusen gelang ihm dieser Nachweis jedoch nicht. Während in der vorliegenden Arbeit die primäre Immunantwort am 11. Tag nach Immunisierung abgeschlossen ist, erhielt BAZIN erst am 25. Tag nach Beginn der oralen Immunisierung PBZ-Maxima. Dieser Unterschied ist wohl dadurch zu erklären, daß BAZIN den Versuchstieren bis zum Versuchstag täglich Schafserythrocyten mit dem Trinkwasser verabfolgte, so daß der am 25. Tag erhaltene Wert möglicherweise schon eine Sekundärantwort repräsentiert. Neben den Immunglobulinen der Klassen IgM und IgG produzierten die von BAZIN nachgewiesenen immunkompetenten Zellen vornehmlich solche der Klasse IgA. Dieses Vorherrschen von IgA-produzierenden

Zellen trat jedoch nicht nach parenteraler Immunisierung auf, was zur Annahme einer möglichen Emigration von IgA-Immunocyten aus der an diesen Zellen besonders reichen Lamina propria des Dünndarms in der Milz führte (20,22). Eine Differenzierung der von den rosettebildenden Zellen produzierten Immunglobuline wurde in dieser Arbeit nicht durchgeführt.

Weiterhin bestehen auch wesentliche Unterschiede bezüglich der Menge der in der Milz nachgewiesenen immunkompetenten Zellen. So liegen die in dieser Arbeit angegebenen Werte weit über denen anderer Autoren.
Diese Feststellung ist wohl dadurch zu erklären, daß die ICA-Technik gegenüber der von den vorgenannten Autoren verwendeten Jerne-Technik eine erheblich höhere Empfindlichkeit besitzt (8,10,82,83).

In bezug auf die Anzahl der Background-RBZ besteht weitgehende Übereinstimmung mit anderen Autoren. BIOZZI gibt einen durchschnittlichen Background-Wert von etwa 500 RBZ/10^6 MZ bei einer Streubreite von 10^2 bis 10^3 RBZ/10^6 MZ an (3,4). Bei LASKOV finden sich Backgroundwerte von 400 bis 2400 RBZ/10^6 MZ (45a). Bei der von mir verwendeten Versuchsanordnung ergab sich ein durchschnittlicher Background von 630 RBZ/10^6 MZ bei Extremwerten von 250 bis 1000 RBZ/10^6 MZ.

Im Gegensatz zur Milz zeigen die hier vorgelegten Ergebnisse das Fehlen einer primären Immunantwort in den Peyerschen Plaques des Dünndarms sowohl nach intraperitonealer als auch nach oraler Immunisierung. Diese Befunde stimmen mit denen anderer Autoren überein. So konnte weder nach parenteraler (5,17,38,73) noch nach oraler Immunisierung mit unterschiedlichen Antigenen

(5,73) in den Peyerschen Plaques des Säugetierdünndarms eine Immunreaktion ausgelöst werden. Lediglich durch direkte Injektion des Antigens in die Peyerschen Plaques war eine primäre Immunantwort auszulösen (45,73). BIENENSTOCK nimmt an, daß das Ausbleiben einer Immunantwort auf das Fehlen eines Mechanismus der Antigenbindung zurückzuführen ist, denn in den Peyerschen Plaques konnte trotz hoher humoraler Antigentiter kein Antigen nachgewiesen werden (5). In neueren Untersuchungen konnte zwar auch nicht über die Auslösung einer primären Immunantwort wohl aber über die einer sekundären berichtet werden (66, 73). Dieses Phänomen wird von den Autoren so erklärt, daß zwar reife T-Zellen in den Peyerschen Plaques fehlen, jedoch nach Stimulation durch Antigene T-Zellen aus anderen lymphatischen Organen in die Peyerschen Plaques einwandern und eine Reaktion zwischen Antigen und B-Zellen veranlassen (45,73). Andere Autoren vermuten auf Grund ihrer Ergebnisse antigensensitive B- und T-Zellen seien in den Peyerschen Plaques vorhanden, jedoch sei noch ein dritter Zelltyp oder anderweitiger Faktor zu einer Immunreaktion nötig, der in den Peyerschen Plaques fehlt (15,44). Die Ursachen der fehlenden Immunkompetenz der Peyerschen Plaques befinden sich also noch in der Diskussion.

ZUSAMMENFASSUNG

Mäuse werden mit Hammelerythrozyten intraperitoneal oder oral immunisiert. Die primäre Immunantwort wird an der Zunahme von rosettebildenden Zellen in der Milz und in den Peyerschen Plaques des Dünndarmes zu verschiedenen Zeiten vergleichend geprüft. Nach beiden Immunisierungsarten wurde ein Anstieg der immunkompetenten Zellen in der Milz nachgewiesen. Die Peyerschen Plaques des Dünndarmes zeigen in dem verwendeten Versuchsmodell keine immunologische Aktivität. Die experimentellen Ergebnisse werden mit den Erfahrungen im internationalen Schrifttum verglichen.

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1 ASHMAN, R. F. Concurrent redistribution of antigen receptors and surface immunglobulin on antigen-binding cells. Immunology, 26, 539 (1973).

2 BACH, J.F. MULLER, J.Y. In vivo Specific antigen recognition by rosette forming cells. Nature, 227, 1251 (1970).

3 BACH, J.F., DARDENNE, M. Antigen recognition by T-lymphocytes II. Similar effects of azathioprine ALS and antitheta serum on rosette forming lymphocytes in normal and neonatally thymektomized mice. Cell. Immunol. 3, 11 (1972).

4 BAZIN, H., LEVI, G. DORIA, G. Predominant contribution of IgA antibody-forming cells to an immune response detected in extraintestinal lymphoid tissues of germ-free mice exposed to antigen by the oral route. J. Immunol., 105, 1049, (1970).

5 BIENENSTOCK, J. DOLEZEL, J. Peyer's Patches: Lack of specific antibody-containing cells after oral and parenteral immunization J. Immunol., 106, 938, (1971).

6 BIOZZI, G., STIFFEL, C., HALPERN, B., MOUTON, D., Recherches sur le mechanisme de l'immunite non specifique produite par les mycobacteries Rev. franc. Etud. clin. biol., 5, 876, (1960).

7 BIOZZI, G., STIFFEL, C., MOUTON, D. A study of the antibody containing cells in the course of immunization Intern.Symp. on Immunity, Cancer and Chemotherapy, (Ed. by. E. Mihich). Academic Press, New York, (1966).

8 BIOZZI, G., STIFFEL, C., MOUTON, D, LIACOPOULOS-BRIOT, M., DECREUSEFOND, C., BOUTHILLIER, Y. Etude du phenomene de l'immunocyto-adherence au cours de l'immunisation. Ann. Inst. Pasteur, 110, (suppl. 3), 7, (1966).

9 BIOZZI, G. STIFFEL, C. MOUTON, D. BOUTHILLIER, Y. DECREUSEFOND, C. — Etude des cellules productrices d'anticorps par la methode de l'immuno-cyto-adherence. Pathol. Biol. 50, 402, (1967).

10 BIOZZI, G. STIFFEL, C. MOUTON, D. BOUTHILLIER, Y. DECREUSEFOND, C. — A kinetic study of antibody producing cells in the spleen of mice immunized intravenously with sheep erythrocytes. Immunol. 14, 7, (1968).

11 BOREL, J.F. SORKIN, E. — Antikörperbildung gegen Schafery-throzyten durch Milzzellen und Blutleukozyten bei der Ratte. Zeitschrift für Immunitätsf., 133, 207, (1967).

12 BOYDEN, S.V. — Cellbound antibodies. The Wistar Institute Press, Philadelphia, (1963).

13 BREUEL, H. — Lokale Immunisierung mit nichtvermehrungsfähigen Mikroorganismen oder ihren Antigenen. Inaug. Diss. F.U. Berlin 1969.

14 BRODY, T. — Identification of two cell populations required for mouse immunocompetence. J. Immunol., 105, 126, (1970).

15 CHANANA, A.D. SCHAEDELI, J. HESS, M.W. COTTIER, H. — Predominance of Theta-positive lymphocytes in gut-associated and peripheral lymphoid tissues of newborn mice. J. Immunol., 110, 283 (1973).

16 CHARREIRE, J. DARDENNE, M. BACH, J.F. — Antigen recognition by T lymphocytes IV. Differences in antigen-binding characteristics of T- and B-RFC: A cause for variations in the evaluation of T-RFC. Cellular Immunol., 9, 32, (1973).

17 COPPOLA, E.D. ABOUL-ENEIN, A. KOPYCINSKI, C.F. DE LUCA, F. — Synergism between Peyers Patch Cells in humoral antibody production. J. Immunol., 108, 831 (1972).

18 CORNELL, R.
WALKER, W.A.
ISSELBACHER, K.J.
Small intestinal absorption of horseradish peroxidase.
Lab. Invest., 25, 42 (1971).

19 CUNNINGHAM, A.J.
SMITH, J.B.
MERCER, E.H.
Antibody formation by single cells from lymph nodes and efferent lymph of sheep.
J. exp. Med. 124, 701 (1966).

20 CRABBÉ, P.A.
NASH, D.R.
BAZIN, H.
EYSSEN, H.
HEREMANS, J.F.
Antibodies of the IgA type in intestinal plasma cells of germ free mice after oral or parenteral immunization with Ferritin.
J. exp. Med. 130, 723-738 (1969).

21 CUNNINGHAM, A.J.
SZENBERG, A.
Further improvements in the plaque technique for detecting single antibody-forming cells.
Immunol., 14, 599, (1968).

22 DOLEZEL, J.
BIENENSTOCK, J.
γA and non-γA immune response after oral and parenteral immunization of the hamster.
Cellular Immunol., 2, 458, (1971).

23 DUFFUS, W.P.H.
ALLAN, D.
A study of the ontogeny of specific immune responsiveness amongst circulating leucocytes in the chicken.
Immunol., 16, 337, (1969).

24 EHRLICH, P.
Experimentelle Untersuchungen über Immunität.
Dtsch. med. Wschr. 32, 976 u. 44, 1218 (1891).

25 FIDLER, J.M.
CHISCON, M.O.
GOLUB, E.S.
Functional development of the interacting cells in the immune response
II. Development of immunocompetence to heterologous erythrocytes in vitro.
J. Immunol., 109, 136, (1972).

26 FISHMAN, M.
Antibody formation in tissue culture.
Nature 183, 1200 (1959).

27 FISHMAN, M.
Antibody formation in vitro.
J. Exp. Med. 114, 837 (1961).

28 FISHMAN, M.
ADLER, F.L.
Antibody formation initiated in vitro
II. Antibody synthesis in X-irradiated recipients of diffusion chambers containing nucleic acid derived from macrophages incubated with antigen.
J. Exp. Med. 117, 595 (1963).

29 FISHMAN, M.
VAN ROOD, J.J.
ADLER, F.L.
The initiation of antibody formation by ribonucleic acid from specifically stimulated macrophages.
"Molecular and Cellular Basis of Antibody Formation"
(J. Sterzl, ed.), 491 Czech. Acad. Sci., Prague (1965).

30 FISHMAN, M.
ADLER, F.L.
HOLUB, M.
Antibody formation initiated in vitro with RNA and RNA antigen complexes.
"Nucleic Acids in Immunology"
(O.Plescia and W. Braun, eds.), 439 Springer-Verlag, Berlin (1968).

31 FRIEDMAN, H.P.
STAVITSKY, A.B.
SOLOMON, J.M.
Induction in vitro of antibodies to phage T2. Antigens in the RNA extract employed.
Science, 149, 1106 (1965).

32 GARVEY, J.S.
CAMPBELL, D.H.
The retention of S-labelled bovine serum albumin in normal and immunized rabbit liver tissue.
J. Exp. Med. 105, 361 (1957).

33 GARVEY, J.S.
On the role of antigen fragments and RNA in the immune response of rabbits to a soluble antigen.
"Nucleic Acids in Immunology"
487 (1968).

34 GREAVES, M.F.
MÖLLER, E.
Studies on antigen-binding cells
I. The origin of reactive cells.
Cellular Immunol., 1, 372, (1970).

35 GREAVES, M.F.
MÖLLER, E.
MÖLLER, G.
Studies on antigen-binding cells
II. Relationship to antigen-sensitive cells.
Cellular Immunol. 1, 386, (1970).

36 GUDAT, F.G.
HARRIS, T.N.
HARRIS, S.
HUMMELER, K.J.
Studies on antibody-producing cells
I Ultrastructure of 19S and 7S antibody-producing cells.
J. exp. Med., 132, 448 (1970).

37 GUDAT, G.
VILLIGER, W.
A scanning and transmission electron microscope study of antigen-binding sites on rosette-forming cells.
J. exp. Med., 137, 438, (1973).

38 HENRY, C.
FAULK, W.P.
KUHN, L.
YOFFEY, J.M.
FUDENBERG, H.H.
Peyer's Patches: immunologic studies.
J. Exp. Med. 131, 1200 (1970).

39 HERBST, E.F.G.
Das Lymphgefäßsystem und seine Verrichtungen.
Göttingen, 1844, 333

40 HOFFMANN, M.
Tierversuche zur Schleimhautpassage und Resorptionsvirämie von T_3-Phagen nach oraler, trachealer und rektaler Gabe.
Zbl. Bakt. I Orig. 198, 371 (1965).

41 INGRAHAM, J.S.
BUSSARD, A.
Application of a localized hemolysin reaction for specific detection of individual antibody forming cells.
J. exp. Med., 119, 667, (1964).

42 JERNE, N.K.
NORDIN, A.A.
HENRY, C.
The agar plaque technique for recognizing antibody-producing cells.
Cell bound antibodies (Ed. by B. Amos and H. Koprowski), p. 109, The Wistar Institute Press, Philadelphia (1963).

43 JERNE, N.K.
NORDIN, A.A.
Plaque formation in agar by single antibody-producing cells.
Science, 140, 405, (1963).

44 KAGNOFF, M.F.
CAMPBELL, S.
Functional characteristics of Peyer's patch lymphoid cells.
J. exp. Med., 139, 398 (1974).

45 KATZ, D.H.
PEREY, D.Y.E.
Lymphocytes in Peyer's Patches of the Mouse: the constituent Cells in Terms of their Capacities to Mediate Functions of Mature T and B Lymphocytes.
J. Immunol. 111, 1507, (1973).

45a LASKOV, R. — Rosette forming cells in non-immunized mice. Nature, 219, 973, (1968).

46 LEVANON, Y. RAETTIG, H. ROSSETINI, S. — Positive immunological reaction of gut cells from orally immunized animals demonstrated by passive cutaneous anaphylaxis. Experientia 24, 600 (1968).

47 Mc CONNEL, I. MUNRO, A. GURNER, B.W. COOMBS, R.R.A. — Studies on actively allergized cells. I. The cyto-dynamics and morphology of rosette-forming lymph node cells in mice and inhibition of rosette-formation with antibody to mouse immunoglobulins. Int. Arch. Allergy Appl. Immunol. 35, 209, (1969).

48 Mc CONNEL, I. — Antigen receptors on the surface of antibody-secreting cells. Nature New Biology, 233, 177, (1971).

49 MEVES, M. — Aufnahme und Verteilung von radiomarkiertem Antigen von S. typhi murium in der Maus bei oraler, rektaler und subkutaner Anwendung. Inaug. Diss., Berlin (1966).

50 MICHELAZZI, L. BALDINI, I. NOVELLI, A. NANNI, G. — Immune response induced by RNA-immunocarrier extracted from heterologous immune.sera. Nature 205, 194 (1965).

51 MOAV, N. HARRIS, T.N. — Rosette formation in relation to active synthesis of antibody. J. Immunol., 105, 1501, (1970).

52 NOSSAL, G.J.V. LEWIS, A.E. MAZIE,H.and J.C. — In vitro stimulation of antibody formation by peritonial cells I. Plaque technique of high sensivity enabling acces to the cells. J. exp. Med., 131, 894, (1970).

53 NOSSAL, G.J.V. LEWIS, H. WARNER, N.L. — Differential sensivity of haemolytic plaque methods at various stages of the immune response. Cellular Immunol., 2, 13, (1971).

54 NOTA, N.R.
LIACOPOULOS-
BRIOT, M.
STIFFEL, C.
BIOZZI, G.

L'immuno-cyto-adhérence: une méthode simple et quantitative pour l'étude in vitro, des cellules productrices d'anticorps.
C.R.Acad. Sc. Paris, 259, 1277, (1964).

55 PAVLOVSKY, S.
BINET, J.L.
DECREUSEFOND, C.
STIFFEL, C.
MOUTON, D.
BOUTHILLIER, Y.
BIOZZI, G.

Etude de la réponse immunologique au niveau cellulaire.
I.: Identification des cellules formatrices de rosettes en microscopie optique et électronique.
Ann. Inst. Pasteur Paris, 119, 63, (1970).

56 RAETTIG, H.

Tierexperimente zur Durchlässigkeit des Intestinaltraktes für Virus.
Zbl. Bakt. I orig. 191, 97 (1963).

57 RAETTIG, H.

Tierexperimente zur Resorptionsvirämie (Vorläufige Mitteilung).
Zbl. Bakt. I Orig. 192, 534 (1964).

58 RAETTIG,H.

Neues zur Wirkungsweise der oralen Immunisierung.
Wien. med. Wschr. 115, 33 (1965).

59 ROSSETINI, S.
LEVANON, Y.
RAETTIG, H.

Orale Immunisierung mit nichtvermehrungsfähigen Mikroorganismen oder ihren Antigenen
7. Mitt.: Nachweis immunkompetenter Zellen im Dünndarm oral geimpfter Versuchstiere.
Zbl. f. Bakt. I. Orig. 208, 16 (1968).

60 RUSSELL, S.M.
FERRARINI, M.F.
MUNRO, A.J.
LACHMANN, P.J.

Detection of Theta antigen by immunofluorescence.
Eur. J. Immunol., 2, 456 (1972).

61 SAHA, A.
GARVEY, J. S.
CAMPBELL, D.H.

The physicochemical characterization of the ribonucleic acid-antigen complex persisting in the liver of immunized rabbits.
Arch. Biochem. Biophy. 105, 179 (1964).

62 SAHM, E.
Sekretion von T_3-Phagen als Modellvirus in den Magen der Maus nach intravenöser Injektion.
Inaug. Diss., Berlin (1968).

63 SCHLESINGER, M.
Anti-θ-antibodies for detecting thymus-dependent lymphocytes in the immune response of mice to SRBC.
Nature (Lond.) 226, 1254 (1970).

64 SCHLEWINSKI, E.
Bakteriämie nach enteraler Persorption von Staphylokokken und vergleichende lokale Immunisierung mit inaktiviertem Antigen.
Inaug. Diss., Berlin (1970).

65 SCHLEWINSKI, E.
GRABEN, N.
FUNK, J.
SAHM, E.
RAETTIG, H.
Orale Immunisierung mit nichtvermehrungsfähigen Mikroorganismen oder ihren Antigenen. 13. Mitt.: Persorption und Sekretion von Mikroorganismen im Tierversuch.
Zbl. Bakt. I Orig. A 218, 93 (1971).

66 SCHLEWINSKI, E.
LUHMER, I.
RAETTIG, H.
Die Immunreaktion in Milz und Peyerschen Plaques nach intravenöser E.Coli-Antigengabe im Vergleich zwischen der Agar-Plaque-Technik und der lokalen Bakteriolyse im Gel.
Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 225, 316-322 (1973).

67 SCHOENBERG, M.D.
MUMOW, V.R.
MOORE, R.D.
WEISBERGER, A.S.
Cytoplasmatic interaction between macrophages and lymphocytic cells in antibody synthesis.
Science 143, 964 (1964).

68 SHEARER, G.M.
CUDKOWICZ, G.
Cluster formation in vitro by mouse spleen cells and sheep erythrocytes.
J. Immunol., 101, 1264, (1968).

69 STICKL, H.
GROTEMEYER, P.
Vaccinaler Immuntransfer mit Zellfraktionen immunkompetenter Zellen.
Z. med. Mikrob. u. Immunol., 154, 80 (1968).

70 STORB, U.
BAUER, W.
STORB, R.
FLIEDNER, T.M.
WEISER, R.S.
Ultrastructure of rosette-forming cells in the mouse during the antibody response.
J. Immunol., 102, 1474 (1969).

71 TAKAHASHI, T.
OLD, L.J.
MC INTIRE, K.R.
BOYSE, E.A.
Immunoglobulin and other surface antigens of cells of the immune system.
J. exp. Med., 134, 815 (1971).

72 UECKER, W.
MEVES, M.
RAETTIG, H.
Orale Immunisierung mit nichtvermehrungfähigen Mikroorganismen oder ihren Antigenen. 6. Mitt.: Tierversuche zur Resorption und Sekretion von radiomarkiertem, bakteriellem Antigen.
Zbl. Bakt. I Orig. 208, 2-15 (1968).

73 VELDKAMP, J.
VAN DER GAAG, R.
WILLERS, J.M.N.
The role of Peyer's patch cells in antibody formation,
Immunology, 25, 761 (1973).

74 VOLKHEIMER, G.
Zur Pathophysiologie der Dünndarmresorption - das Phänomen der Persorption.
Aktuelle Kongreßberichte. 2.-17. Ärztl. Fortbildungskurs, Bad Kissingen, S. 61 (1967).

75 WARSHAW, A.L.
WALKER, W.A.
ISSELBACHER, K.J.
Small intestinal permeability to macromolecules transmission of horseradish peroxidase into mesenteric and portal blood.
Lab. Invest. 25, 675 (1971).

76 WERNER, H.J.
Nachweis immunkompetenter Zellen in Darm und lymphatischen Organen der Maus nach oraler Immunisierung.
Inaug. Diss., Berlin (1971).

77 WILSON, J.D.
MILLER, J.F.A.P.
T and B rosette-forming cells.
Europ. J. Immunology, 1, 501 (1971).

78 WILSON, J.D.
The relationship of antibody-forming cells to rosette-forming cells.
Immunol., 21, 233, (1971).

79 WILSON, J.D.
FELDMANN, M.
Dynamic aspects of antigen binding to B cells in immune induction.
Nature New Biology, 237, 3, (1972).

80 WILSON, J.D.
The functions of immune T and B rosette-forming cells.
Immunol., 25, 185 (1973).

81 ZAALBERG, O.B.
A simple method for detecting single antibody forming cells.
Nature, 202, 1231 (1964).

82 ZAALBERG, O.B.
VAN DER MEUL, V.A.
VAN TWISK, J.M.
Antibody production by single spleen cells: a comparative study of the cluster and agar-plaque formation.
Nature, 210, 544, (1966).

83 ZAALBERG, O.B.
VAN DER MEUL, V.A.
VAN TWISK, M.J.
Antibody production by isolated spleen cells: A study of the cluster and the plaque techniques.
J. Immunol., 100, 451, (1968).

84 ZUCKER-FRANKLIN,D.
BERNEY, S.
Electron microscope study of surface immunoglobulin-bearing human tonsil cells.
J. exp. Med., 135, 533, (1972).

Herrn Professor Raettig danke ich für die Überlassung des Themas und für die wertvollen Anregungen bei der Abfassung der Arbeit.

Frau Dr. Schlewinski danke ich für die Einführung in die immunologische Arbeit und die weitere Beratung bei der Durchführung der Versuche.

Frl. Chr. Jaschinski gilt mein weiterer Dank für technische Assistenz.

Diese Arbeit wurde zum Teil aus Mitteln der Deutschen Forschungsgemeinschaft finanziert. Für diese Unterstützung sei hiermit gedankt.

LEBENSLAUF

Am 11. April 1944 wurde ich als Sohn des Regierungsbaumeisters Werner Treis und seiner Ehefrau Elfriede geb. Wein in Cottbus geboren.

Von 1950 bis 1957 besuchte ich die Grundschule in Berlin, von 1957 die Heinrich-von-Kleist-Schule, an der ich 1965 die Reifeprüfung ablegte.

Im Sommersemester 1965 begann ich an der Freien Universität mit dem Medizinstudium, welches ich im Jahre 1972 mit Ablegung des Staatsexamens beendete.

Zur Zeit schließe ich meine Medizinalassistentenzeit auf der I. Inneren Abteilung des Städt. Krankenhauses Moabit ab.

B. Ladewig - Dissertationsdruck - 1 Berlin 12 - Pestalozzistraße 106
Tel.: 3128885 - 3138198